

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN
EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad
Intelectual
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional
18 de Agosto de 2005 (18.08.2005)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2005/075649 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes⁷: C12N 15/29,
15/70, 15/82, A01H 5/00, C12Q 1/48

(72) Inventores; e

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/ES2005/070010

(75) Inventores/Solicitantes (*para US solamente*): BAROJA
FERNÁNDEZ, Miren Edurne [ES/ES]; Campus de Arrosadia S/N, (OTRI) Edificio el Sario, E-31006 Pamplona
(ES). MUÑOZ PÉREZ, Francisco José [ES/ES]; Cam-
pus de Arrosadia S/N, (OTRI) Edificio el Sario, E-31006
Pamplona (ES). POZUETA ROMERO, Francisco Javier
[ES/ES]; Campus de Arrosadia S/N, (OTRI) Edificio el
Sario, E-31006 Pamplona (ES). MORÁN ZORZANO,
María Teresa [ES/ES]; Campus de Arrosadia S/N, (OTRI)
Edificio el Sario, E-31006 Pamplona (ES). ALONSO
CASAJÚS, Nora [ES/ES]; Campus de Arrosadia S/N,
(OTRI) Edificio el Sario, E-31006 Pamplona (ES).

(22) Fecha de presentación internacional:
27 de Enero de 2005 (27.01.2005)

(74) Mandatario: ELZABURU, Alberto de; Elzaburu, S.A.,
Miguel Angel 21, E-28010 Madrid (ES).

(25) Idioma de presentación:
español

(81) Estados designados (*a menos que se indique otra cosa,*
para toda clase de protección nacional admisible): AE,
AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY,
BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ,
EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID,
IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT,
LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI,

(26) Idioma de publicación:
español

[Continúa en la página siguiente]

(54) Title: METHOD OF PRODUCING RECOMBINANT SUCROSE SYNTHASE, USE THEREOF IN THE PRODUCTION OF
SUCROSE-DETERMINATION KITS, METHOD OF PRODUCING ADPGlUCOSE AND METHOD OF OBTAINING TRANS-
GENIC PLANTS HAVING LEAVES AND RESERVE ORGANS WHICH ACCUMULATE A HIGH CONCENTRATION OF
ADPGlUCOSE AND STARCH

(54) Título: PROCEDIMIENTO PARA LA PRODUCCIÓN DE SACAROSA SINTASA RECOMBINANTE SU USO EN LA
FABRICACIÓN DE KITS DE DETERMINACIÓN DE SACAROSA PRODUCCIÓN DE ADPGlUCOSA Y OBTENCIÓN DE
PLANTAS TRANSGÉNICAS CUYAS HOJAS Y ÓRGANOS DE RESERVA ACUMULEN ALTO CONTENIDO EN ADPGlUCOSA Y ALMIDÓN

(57) Abstract: The invention relates to a method for the efficient production of large quantities of soluble recombinant sucrose synthase (SS) in the active form thereof, with the expression of the gene that codes for SS in a strain of *Escherichia coli*. The expression vector used enables the recombinant SS thus produced to have a histidine tail which facilitates the rapid purification thereof. In addition, the invention relates to sequences of mutated versions of the SS gene, which code for SS isoforms that are suitable for the production of ADPG. The invention also relates to an efficient method for the production of ADPG and UDPG, using the wild and mutated versions of recombinant SS. The invention further relates to the use of SS for the production of sucrose determination test devices. Finally, the invention relates to a method of obtaining transgenic plants which overexpress the SS gene, either constitutively or in the reserve organs or leaves thereof, and which have a high concentration (both in the leaves and in the reserve tissues) of sucrose, ADPG, G6P and starch owing to the high ADPG-synthesising activity of SS.

(57) Resumen: Se describe un procedimiento de producción eficiente de grandes cantidades SS recombinante soluble en su forma activa, mediante expresión del gen que codifica para la SS en una cepa de *Escherichia coli*. El vector de expresión utilizado permite que la SS recombinante producida posea una cola de histidinas que facilita su purificación de manera rápida. Asimismo se describen secuencias de versiones mutadas del gen de la SS que codifican para isoformas de la SS adecuadas para la producción de ADPG. Haciendo uso de las versiones "silvestre" y "mutada" de SS recombinante, se describe un método eficiente de producción de ADPG y UDPG. También se describe la utilización de la SS para la producción de dispositivos de ensayo de determinación de sacarosa. Por último se describe la obtención de plantas transgénicas que sobre-expresan el gen de la SS, bien constitutivamente, bien en hojas u órganos de reserva, y que poseen un contenido alto (tanto en hojas como en tejidos de reserva) en sacarosa, ADPG, G6P y almidón como resultado de la alta actividad sintetizadora de ADPG de la SS.

WO 2005/075649 A1



NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

- (84) **Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible):** ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:

- con informe de búsqueda internacional
- con (una) indicación(es) relativa(s) a material biológico depositado en virtud de lo dispuesto en la Regla 13bis, aparte de la descripción
- con la parte de lista de secuencias de la descripción publicada separadamente en forma electrónica y disponible por medio de la Oficina Internacional previa petición

Para códigos de dos letras y otras abreviaturas, véase la sección "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" que aparece al principio de cada número regular de la Gaceta del PCT.